

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
31. Dezember 2003 (31.12.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/001023 A3

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12N 5/06,  
A61K 38/18

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/006509

(22) Internationales Anmeldedatum:  
20. Juni 2003 (20.06.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
102 27 611.0 20. Juni 2002 (20.06.2002) DE  
102 34 204.0 26. Juli 2002 (26.07.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): BIONETHOS HOLDING GMBH [DE/DE]; Hinter  
den langen Höfen 16, 31275 Immensen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BADER, Augustinus  
[DE/DE]; Hinter den langen Höfen 16, 31275 Immensen  
(DE).

(74) Anwalt: KÖNIG, Reimar; König, Szyuka, von Renesse,  
Postfach 11 09 46, 40509 Düsseldorf (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,  
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,  
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,  
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,  
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,  
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT,  
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),  
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,  
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,  
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,  
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 8. Juli 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-  
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-  
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der  
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MULTIPLYING AND DIFFERENTIATING CELLS IN THE PRESENCE OF GROWTH FACTORS AND OF A BIOLOGICAL MATRIX OR OF A SUPPORTING STRUCTURE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR VERMEHRUNG UND DIFFERENZIERUNG VON ZELLEN IN ANWESENHEIT VON WACHSTUMSFAKTOREN UND EINER BIOLOGISCHEN MATRIX ODER TRÄGERSTRUKTUR

(57) Abstract: The invention relates to an in-vitro and in-vivo method for multiplying and differentiating cells, during which the growth process of the cells is initiated or terminated and structurally directed by the use of growth factors thrombopoietin (TPO) and/or erythropoietin (EPO), and/or growth hormone (GH), particularly human growth hormone (HGH), and/or somatostatin and/or leukemia inhibitory factor (LIF) and/or ciliary neurotropic factor (CNTF). The invention also relates to a biological matrix or supporting structure containing the aforementioned growth factors, and to a method and device for the production thereof and for carrying out the inventive method.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft zum einen ein in vitro und in vivo Verfahren zur Vermehrung und Differenzierung von Zellen, bei dem der Wachstumsprozess der Zellen durch den Einsatz der Wachstumsfaktoren Thrombopoietin (TPO) und/oder Erythropoietin (EPO), und/oder Wachstumshormon (GH), insbesondere "Human Growth Hormone" (HGH), und/oder Somatostatin und/oder "Leukemia Inhibitory Factor" (LIF) und/oder "Ciliary Neurotropic Factor" (CNTF) eingeleitet bzw. terminiert und strukturell gelenkt wird, und zum anderen eine biologische Matrix oder Trägerstruktur enthaltend die genannten Wachstumsfaktoren sowie ein Verfahren und eine Vorrichtung zu deren Herstellung bzw. zur Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens.

WO 2004/001023 A3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/06509

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 C12N5/06 A61K38/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 27657 A (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY) 12 September 1996 (1996-09-12) page 5, line 5 -page 11, line 2 page 12, line 25 -page 13, line 4 page 18, line 16-21 page 14, line 18-20	1-3,5-27
Y	---	4
X	WO 90 10647 A (UNIV CALIFORNIA) 20 September 1990 (1990-09-20)  page 7, line 8 -page 8, line 17	1,5-11, 13, 15-17, 19,22, 23,25
X	US 5 919 702 A (PURCHIO ANTHONY F ET AL) 6 July 1999 (1999-07-06) column 16, line 32 - line 40  -/--	1,2,5-26

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 February 2004

Date of mailing of the international search report

09/02/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

ALCONADA RODRIG..., A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/06509

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>RATAJCZAK J ET AL: "IMPROVED SERUM FREE SYSTEM FOR CLONING HUMAN PURE ERYTHROID COLONIES. THE ROLE OF DIFFERENT GROWTH FACTORS AND CYTOKINES ON BFU-E FORMATION BY THE BONE MARROW AND CORD BLOOD CD34+ CELLS"</p> <p>FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA, VESALIUS UNIVERSITY MEDICAL PUBLISHER, KRAKOW,, PL, vol. 36, no. 2, 1998, pages 55-60, XP000886615 ISSN: 0239-8508 table 2</p>	1-3, 10, 11
Y	<p>WO 01 48153 A (CHILDRENS MEDICAL CENTER) 5 July 2001 (2001-07-05) page 3, line 1-12</p>	4
A	<p>KAWAI K ET AL: "Accelerated tissue regeneration through incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres into artificial dermis - targeted delivery systems"</p> <p>BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 21, no. 5, March 2000 (2000-03), pages 489-499, XP004185546 ISSN: 0142-9612</p>	
A	<p>EP 0 358 506 A (MARROW TECH INC) 14 March 1990 (1990-03-14) page 3, line 5-40</p>	1-12

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/06509

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9627657	A	12-09-1996	WO 9627657 A1	12-09-1996
			US 6045818 A	04-04-2000
			US 5906828 A	25-05-1999
WO 9010647	A	20-09-1990	AU 5341790 A	09-10-1990
			CA 2047718 A1	16-09-1990
			EP 0463082 A1	02-01-1992
			JP 4503811 T	09-07-1992
			WO 9010647 A1	20-09-1990
US 5919702	A	06-07-1999	AU 731827 B2	05-04-2001
			AU 4988897 A	15-05-1998
			CA 2269121 A1	30-04-1998
			EP 0939803 A1	08-09-1999
			JP 2001502905 T	06-03-2001
			KR 2000052709 A	25-08-2000
			NZ 335531 A	29-09-2000
			WO 9817791 A1	30-04-1998
WO 0148153	A	05-07-2001	US 6479064 B1	12-11-2002
			AU 2099901 A	09-07-2001
			CA 2395698 A1	05-07-2001
			EP 1246903 A1	09-10-2002
			JP 2003518517 T	10-06-2003
			WO 0148153 A1	05-07-2001
			US 2003124099 A1	03-07-2003
EP 0358506	A	14-03-1990	US 4963489 A	16-10-1990
			US 5032508 A	16-07-1991
			AU 644578 B2	16-12-1993
			AU 4211489 A	02-04-1990
			BR 8907642 A	20-08-1991
			CA 1335657 C	23-05-1995
			DK 40591 A	07-05-1991
			EP 0358506 A2	14-03-1990
			HU 56393 A2	28-08-1991
			IL 91536 A	31-10-1996
			JP 2000189158 A	11-07-2000
			JP 4501657 T	26-03-1992
			JP 2001258555 A	25-09-2001
			KR 156571 B1	15-10-1998
			KR 156684 B1	15-10-1998
			KR 156685 B1	15-10-1998
			NO 910787 A	22-04-1991
			NZ 230572 A	23-12-1993
			PT 91676 A	30-03-1990
			WO 9002796 A1	22-03-1990
			US 5443950 A	22-08-1995
			US 5962325 A	05-10-1999
			US 5460939 A	24-10-1995
			US 6140039 A	31-10-2000
			US 5510254 A	23-04-1996
			US 6022743 A	08-02-2000
			US 5580781 A	03-12-1996
			US 5516680 A	14-05-1996
			US 5512475 A	30-04-1996
			US 5541107 A	30-07-1996
			US 5516681 A	14-05-1996

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/06509

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0358506	A	US 5578485 A	26-11-1996
		US 5785964 A	28-07-1998
		US 5518915 A	21-05-1996
		US 5624840 A	29-04-1997
		US 5902741 A	11-05-1999
		US 5863531 A	26-01-1999
		US 5266480 A	30-11-1993
		US 5160490 A	03-11-1992
		US 5849588 A	15-12-1998
		US 5858721 A	12-01-1999
		ZA 8906886 A	27-06-1990

# INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/06509

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 C12N5/06 A61K38/18

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 96 27657 A (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY) 12. September 1996 (1996-09-12) Seite 5, Zeile 5 -Seite 11, Zeile 2 Seite 12, Zeile 25 -Seite 13, Zeile 4 Seite 18, Zeile 16-21	1-3,5-27
Y	Seite 14, Zeile 18-20	4
X	WO 90 10647 A (UNIV CALIFORNIA) 20. September 1990 (1990-09-20)  Seite 7, Zeile 8 -Seite 8, Zeile 17	1,5-11, 13, 15-17, 19,22, 23,25
X	US 5 919 702 A (PURCHIO ANTHONY F ET AL) 6. Juli 1999 (1999-07-06) Spalte 16, Zeile 32 - Zeile 40	1,2,5-26
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. Februar 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/02/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

ALCONADA RODRIG..., A

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>RATAJCZAK J ET AL: "IMPROVED SERUM FREE SYSTEM FOR CLONING HUMAN PURE ERYTHROID COLONIES. THE ROLE OF DIFFERENT GROWTH FACTORS AND CYTOKINES ON BFU-E FORMATION BY THE BONE MARROW AND CORD BLOOD CD34+ CELLS"</p> <p>FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA, VESALIUS UNIVERSITY MEDICAL PUBLISHER, KRAKOW,, PL, Bd. 36, Nr. 2, 1998, Seiten 55-60, XP000886615 ISSN: 0239-8508 Tabelle 2</p>	1-3, 10, 11
Y	<p>WO 01 48153 A (CHILDRENS MEDICAL CENTER) 5. Juli 2001 (2001-07-05) Seite 3, Zeile 1-12</p>	4
A	<p>KAWAI K ET AL: "Accelerated tissue regeneration through incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres into artificial dermis - targeted delivery systems"</p> <p>BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, Bd. 21, Nr. 5, März 2000 (2000-03), Seiten 489-499, XP004185546 ISSN: 0142-9612</p>	
A	<p>EP 0 358 506 A (MARROW TECH INC) 14. März 1990 (1990-03-14) Seite 3, Zeile 5-40</p>	1-12

# INTERNATIONALER RESEARCH-BERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/06509

Im Recherchebericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9627657 A	12-09-1996	WO 9627657 A1 US 6045818 A US 5906828 A	12-09-1996 04-04-2000 25-05-1999
WO 9010647 A	20-09-1990	AU 5341790 A CA 2047718 A1 EP 0463082 A1 JP 4503811 T WO 9010647 A1	09-10-1990 16-09-1990 02-01-1992 09-07-1992 20-09-1990
US 5919702 A	06-07-1999	AU 731827 B2 AU 4988897 A CA 2269121 A1 EP 0939803 A1 JP 2001502905 T KR 2000052709 A NZ 335531 A WO 9817791 A1	05-04-2001 15-05-1998 30-04-1998 08-09-1999 06-03-2001 25-08-2000 29-09-2000 30-04-1998
WO 0148153 A	05-07-2001	US 6479064 B1 AU 2099901 A CA 2395698 A1 EP 1246903 A1 JP 2003518517 T WO 0148153 A1 US 2003124099 A1	12-11-2002 09-07-2001 05-07-2001 09-10-2002 10-06-2003 05-07-2001 03-07-2003
EP 0358506 A	14-03-1990	US 4963489 A US 5032508 A AU 644578 B2 AU 4211489 A BR 8907642 A CA 1335657 C DK 40591 A EP 0358506 A2 HU 56393 A2 IL 91536 A JP 2000189158 A JP 4501657 T JP 2001258555 A KR 156571 B1 KR 156684 B1 KR 156685 B1 NO 910787 A NZ 230572 A PT 91676 A WO 9002796 A1 US 5443950 A US 5962325 A US 5460939 A US 6140039 A US 5510254 A US 6022743 A US 5580781 A US 5516680 A US 5512475 A US 5541107 A US 5516681 A	16-10-1990 16-07-1991 16-12-1993 02-04-1990 20-08-1991 23-05-1995 07-05-1991 14-03-1990 28-08-1991 31-10-1996 11-07-2000 26-03-1992 25-09-2001 15-10-1998 15-10-1998 15-10-1998 22-04-1991 23-12-1993 30-03-1990 22-03-1990 22-08-1995 05-10-1999 24-10-1995 31-10-2000 23-04-1996 08-02-2000 03-12-1996 14-05-1996 30-04-1996 30-07-1996 14-05-1996



# INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/06509

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0358506	A	US 5578485 A	26-11-1996
		US 5785964 A	28-07-1998
		US 5518915 A	21-05-1996
		US 5624840 A	29-04-1997
		US 5902741 A	11-05-1999
		US 5863531 A	26-01-1999
		US 5266480 A	30-11-1993
		US 5160490 A	03-11-1992
		US 5849588 A	15-12-1998
		US 5858721 A	12-01-1999
		ZA 8906886 A	27-06-1990